

Полоз С.В., кандидат ветеринарных наук¹

Дегтярик С.М., кандидат биологических наук, доцент¹

Слободницкая Г.В., кандидат сельскохозяйственных наук¹

Стрельчяня И.И., кандидат ветеринарных наук, доцент²

¹РУП «Институт рыбного хозяйства» РУП «НПЦ НАН Беларуси по животноводству», г. Минск

²РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского», г. Минск

МАРКЕРЫ УСТОЙЧИВОСТИ ПОЙКИЛОТЕРМНЫХ ЖИВОТНЫХ К СТРЕССОВОМУ ВОЗДЕЙСТВИЮ

Резюме

Биохимическое и иммунобиологическое исследование проб крови карповых рыб, проведение половозрастного и размерно-весового анализа показало наличие изменений, характерных для стрессового воздействия. Обследование карповых рыб в условиях аквакультуры установило, что влияние стресса различного происхождения на устойчивость рыб и рыбоводные показатели является современной актуальной проблемой, решение которой имеет значение как для оценки репродуктивного потенциала рыб, так и для разработки мер по устранению негативных последствий стресса. При оценке состояния экспериментальной группы карпа с учетом массы и длины тела установлено, что на их величины влияет температура водной среды. Показана зависимость уровня кортизола и общего белка сыворотки крови карпа от пола, возраста, плотности посадки, температуры водной среды и скорости ее повышения.

Ключевые слова: карп, адаптационные процессы, кортизол сыворотки крови, общий белок, плотность, температура, аквакультура.

Summary

Biochemical and immunobiological studies of blood samples from cyprinids, age-sex and size-weight analysis showed the presence of changes characteristic of stress. The study of cyprinids in aquaculture has established that the influence of stress of various origins on the resistance of fish and fish-breeding indicators is a current urgent problem, the solution of which is important both for assessing the reproductive potential of fish and for developing measures to eliminate the negative consequences of stress. When assessing the state of the experimental group of carp, taking into account body weight and length, it was found that their values are influenced by the temperature of the aquatic environment. The dependence of the level of cortisol and total protein of carp blood serum on sex, age, stocking density, temperature of the aquatic environment and the rate of its increase is shown.

Key words: carp, adaptation processes, serum cortisol, total protein, density, temperature, aquaculture.

Поступила в редакцию 13.04.2021 г.

ВВЕДЕНИЕ

Состояние стресса возникает как следствие влияния на организм любых сильных повреждающих факторов и раздражителей. При их воздействии на организм неспецифические реакции стресса прежде всего направлены на стимуляцию энергетического обеспечения приспособительных процессов. Ведущую роль в этих неспецифических реакциях играют катехоламины и глюкокортикоиды, в значительных количествах мобилизуемые в кровь. Важное значение в данном процессе при-

надлежит кортизолу – биологически активному глюкокортикоидному гормону стероидной природы, имеющему в своей структуре стерановое ядро. Кортизол секретируется наружным слоем надпочечников под воздействием адренкортикотропного гормона. Секреция АКТГ, в свою очередь, стимулируется соответствующим рилизинг-фактором гипоталамуса. Кортизол отвечает за обмен веществ в организме, участвует в выработке энергии из ресурсов организма и поддержании его здоровья. Благодаря этому гормону организм полон

быстрой энергии для защиты, преодоления расстояний, добычи еды и т.д. [1, 3, 4].

Цель работы – установить уровень кортизола и общего белка сыворотки крови карпа (*Cyprinus carpio*) в различном физиологическом состоянии, а также в зависимости от технологических приемов выращивания как показателей, характеризующих приспособительные возможности и устойчивость данного вида в условиях эффективного ведения аквакультуры.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проводили на базе производственных участков селекционно-племенного участка «Изобелино» и хозрасчетного участка «Вилейка» Минской области, а также в условиях лаборатории болезни рыб РУП «Институт рыбного хозяйства» РУП «НПЦ НАН Беларуси по животноводству» в четыре этапа:

1) определение уровня кортизола у самок и самцов ремонтно-маточного стада карпа на разных этапах в условиях естественного нерестового процесса;

2) установление уровня кортизола у двух- и трехлетнего карпа (товарная рыба) в период нагула;

3) определение уровня кортизола у карпа в зависимости от плотности посадки (в экспериментальных условиях);

4) определение уровня кортизола у карпа в зависимости от температуры и скорости ее повышения (в экспериментальных условиях).

На первом этапе отбор крови у производителей карпа проводили до нерестовой компании и непосредственно после нее.

На втором этапе отбор крови у товарного карпа проводили в период нагула.

Третий этап – исследования в экспериментальных условиях на базе лаборатории болезней рыб. Методом рандомных аналогов было сформировано три группы карповых рыб (сеголеток). В первой группе (n=30) плотность посадки составила 6 экз./10 дм³, во второй (n=15) – 3 экз./10 дм³, в третьей (n=5) – 1 экз./10 дм³. В течение 6 дней рыбу содержали в одинаковых условиях, на 7-й – проводили отбор крови.

На четвертом этапе экспериментальные исследования проводили в двух сериях опытов. В серии № 1 определяли влияние постепенного увеличения температуры водной среды. Методом рандомных аналогов было сформировано три группы карповых рыб (сеголеток). В первой группе (n=10) температуру постепенно увеличивали до 22 °С, во второй группе (n=11) температуру – до 30 °С, в третьей (контрольной) группе (n=10) температуру поддерживали на уровне 15 °С. Во всех аквариумах была организована постоянная аэрация. В течение 4 суток рыбу содержали в обозначенных условиях, на 5 сутки проводили отбор крови.

В серии № 2 устанавливали влияние резкого увеличения температуры водной среды. Методом рандомных аналогов было сформировано две группы карповых рыб (сеголеток). В первой группе (n=8) температуру водной среды резко увеличивали с 15 °С до 30 °С. Вторая (контрольная) группа (n=6) содержалась при температуре 15 °С.

На всех этапах исследования сыворотку крови получали общепринятыми методами (у сеголеток – из сердца) с последующим центрифугированием [2]. Уровень общего белка определяли с помощью рефрактометра согласно инструкции по применению. Показатели кортизола устанавливали методом иммуноферментного анализа, используя диагностические наборы. Затем строили калибровочную кривую, нанося данные среднего значения коэффициента поглощения, полученного из каждого референсного стандарта. Используя среднее значение коэффициента поглощения для каждого образца, по калибровочной кривой определяли соответствующую концентрацию кортизола в нмоль/л. Определение размерно-весовых показателей проводили общепринятыми методами. Статистическая обработка проводилась в программе Excel.

Работа выполнена по гранту Б20-019 Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ**Определение уровня кортизола у самок и самцов ремонтно-маточного стада карпа на разных этапах в условиях естественного нерестового процесса**

Результаты наших исследований показали, что в условиях аквакультуры самки-производители карпа являются менее устойчивыми к воздействию стрессовых факторов по сравнению с самцами-производителями. При этом уровень гормона кортизола в группе самок составил $1157,62 \pm 60,6$ нмоль/л, что на 51,68 % достоверно выше, чем у самцов-производителей ($559,37 \pm 49,7$ нмоль/л).

Проведение нерестовой компании оказывает равное стрессовое воздействие на самок-производителей и самцов-производителей. При этом уровень гормона кортизола у самок-производителей карпа составляет $725,77 \pm 112,38$ нмоль/л, а у самцов-производителей – $733,99 \pm 120,38$ нмоль/л.

Результаты собственных исследований показали, что кортизол как гормон стресса играет важную роль в ответе на воздействие факторов внешней среды и адаптации самок и самцов маточного стада карпа.

Определение уровня кортизола у двух- и трехлетнего карпа (товарная рыба) в период нагула показало, что стресс оказывает влияние не только на производителей карповых рыб, но и на двух- и трехлетнего карпа в период нагула и проявляется изменением физиологических по-

казателей. Установлено, что в условиях аквакультуры двухлетний карп является менее устойчивым к воздействию стрессовых факторов по сравнению с трехлетним. При этом уровень гормона кортизола в группе двухлетнего карпа составил $1057,38 \pm 57,7$ нмоль/л, что на 22 % достоверно выше, чем у трехлетнего ($824,63 \pm 49,8$ нмоль/л).

В период нагула карпы двух- и трехлетнего возраста подвергаются стрессовому воздействию средовых факторов, что отражается на таком показателе, как белок сыворотки крови. При этом уровень белка у двухлетнего карпа составляет $13,28 \pm 1,3$ г/л, а у трехлетнего – $25,64 \pm 0,41$ г/л.

Установлено, что стресс играет важную роль в ответе на воздействие факторов внешней среды и адаптации как у двухлетнего, так и трехлетнего карпа и проявляется выраженными изменениями со стороны гормона кортизола и белка в сыворотке крови. При этом карп двухлетнего возраста является более восприимчивым к внешнему воздействию, следовательно, более уязвимым.

При **определении уровня кортизола у карпа в зависимости от плотности посадки (в экспериментальных условиях)** выявлено, что уровень общего белка сыворотки крови сеголеток карпа в группе № 1 ниже на 28,43 % по сравнению с контрольной группой, в которой данный показатель составляет $23,78 \pm 0,68$ г/л (рисунок 1).

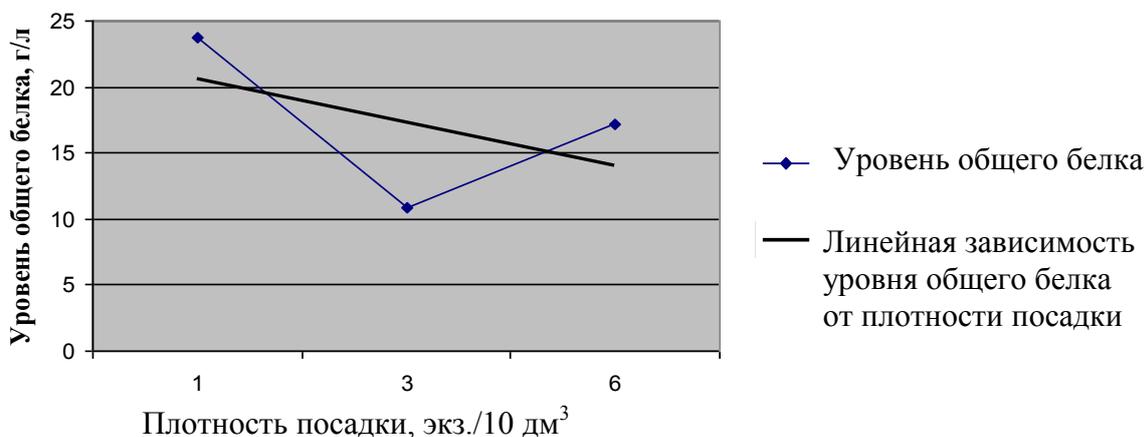


Рисунок 1. – Уровень общего белка сыворотки крови сеголеток карпа экспериментальных групп

Уровень кортизола сыворотки крови сеголеток карпа в группе № 2 (плотность посадки 3 экз./10 дм³) был в 3 раза выше, чем в контрольной группе № 3 (плотность посадки 1 экз./10 дм³), в кото-

рой данный показатель был равен 90,9±8,5 нмоль/л. В группе № 1 (плотность посадки 6 экз./10 дм³) увеличение составило 3,5 раза (322,9±3,65 нмоль/л) (рисунок 2).

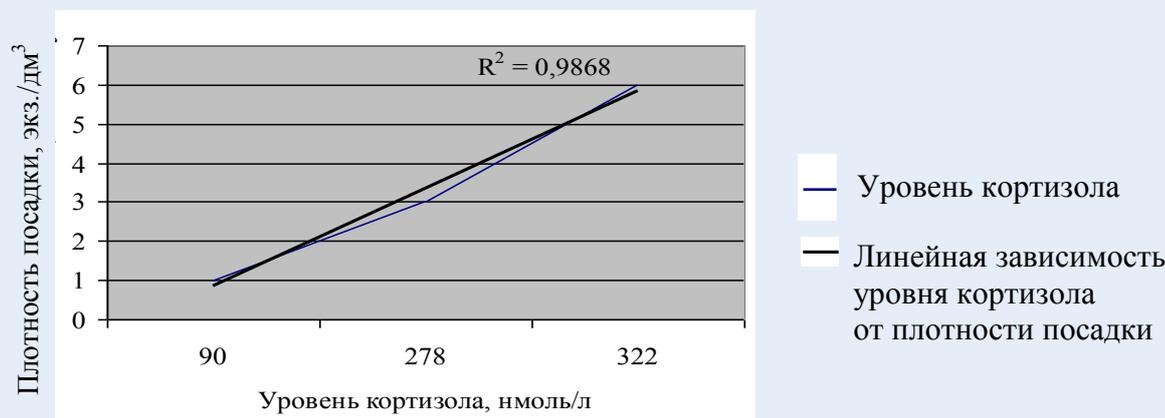


Рисунок 2. – Зависимость уровня кортизола от плотности посадки

Размерно-весовые показатели сеголеток карпа экспериментальных групп не имели достоверных отличий (таблица 1).

Таблица 1. – Размерно-весовые показатели сеголеток карпа экспериментальных групп

Группа	Плотность посадки	Показатели	
		масса тела, г	длина тела, см
1	6 экз./10дм ³	14,97±0,21	8,68±0,47
2	3 экз./10 дм ³	17,6±0,15	9,22±0,19
3	1 экз./10 дм ³	16,25±2,65	8,77±0,54

Результаты исследований показали, что плотность посадки сеголеток карпа является одним из стрессовых факторов, играющих важную роль в формировании адаптационных процессов и непосредственно коррелирует с уровнем кортизола, определяющим степень стрессового воздействия. В результате экспериментальных исследований установлена зависимость уровня кортизола в сыворотке крови карпа от плотности посадки. При трехкратном увеличении плотности посадки уровень кортизола увеличивается в 3 раза и составляет 278,8±3,9 нмоль/л. Шестикратное увеличение приводит к увеличению уровня кортизола до 322,9±3,65 нмоль/л, что в 3,5 раза выше, чем в контрольной группе (90,9±8,5 нмоль/л). Также в группе с шестикратным увеличением плотности посадки наблюдается снижение уровня общего белка сыворотки крови до 17,02±1,1 г/л по срав-

нению с контрольной группой, в которой данный показатель составляет 23,18±0,68 г/л.

Изучение влияния температурного фактора на уровень кортизола у карпа (в условиях эксперимента)

При постепенном повышении температуры до 30 °С без аэрации через два часа началась гибель рыбы (20 %). Далее экспериментальные исследования проводили при постоянной одинаковой аэрации во всех экспериментальных группах.

Постепенное увеличение температуры водной среды на 10–15 °С приводит к снижению уровня общего белка сыворотки крови до 19,5±1,9–19,0±1,7 г/л по сравнению с контрольной группой, в которой данный показатель составляет 21,1±2,4 г/л.

В результате экспериментальных исследований установлена зависимость уровня кортизола в сыворотке крови карпа от изменения температуры водной среды.

При постепенном увеличении температуры до 22 °С уровень кортизола увеличивается на 35,6 % и составляет 227,1±30,8 нмоль/л

($p < 0,005$), а до 30 °С – увеличивается на 49,1 % ($p < 0,005$) и составляет 287,3±15,2 нмоль/л (рисунок 3).

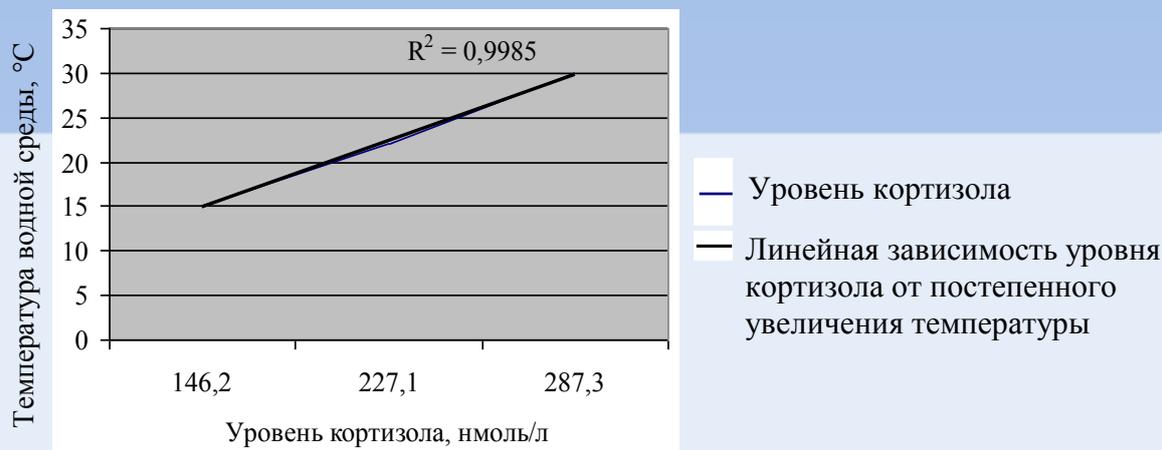


Рисунок 3. – Зависимость уровня кортизола от постепенного увеличения температуры

Результаты исследований показали, что в конце опыта у сеголеток группы 1 масса тела снизилась на 6,7 г, у сеголеток группы 2 – на 5,4 г, в группе 3 (к) – на

3,6 г. При этом снижение массы в опытных группах 1 и 2 по сравнению с контрольной группой составило соответственно 53,7 % и 66,7 % (таблица 2).

Таблица 2. – Масса сеголеток карпа экспериментальных групп, г

Группа 1		Группа 2		Группа 3 (к)	
начало опыта	окончание опыта	начало опыта	окончание опыта	начало опыта	окончание опыта
41,0±2,5	34,3±1,4	37,3±3,3	31,9±3,0	43,5±8,3	39,9±7,6

Результаты исследований показали, что в конце опыта у сеголеток группы 1 длина тела увеличилась на 2,5 см, у сеголеток группы 2 – на 2,8 см, у сеголеток

группы 3 (к) – на 2,8. При этом отставание в росте рыбы из опытной группы 1 по сравнению с контрольной группой составило 10,7 % (таблица 3).

Таблица 3. – Длина тела сеголеток карпа экспериментальных групп, см

Группа 1		Группа 2		Группа 3 (к)	
начало опыта	окончание опыта	начало опыта	окончание опыта	начало опыта	окончание опыта
11,4±0,2	13,9±0,3	11,1±0,2	13,9±0,2	11,4±0,6	14,2±0,8

При резком повышении температуры водной среды на 15 °С через минуту начинается гибель сеголеток карпа. В течение 5 минут отмечается 100%-ная летальность. В группе с резким увеличением тем-

пературы водной среды на 15 °С наблюдается значительное снижение уровня общего белка сыворотки крови до $14,8 \pm 0,8$ г/л, что на 31,2 % ниже, чем в контрольной группе (рисунок 4).

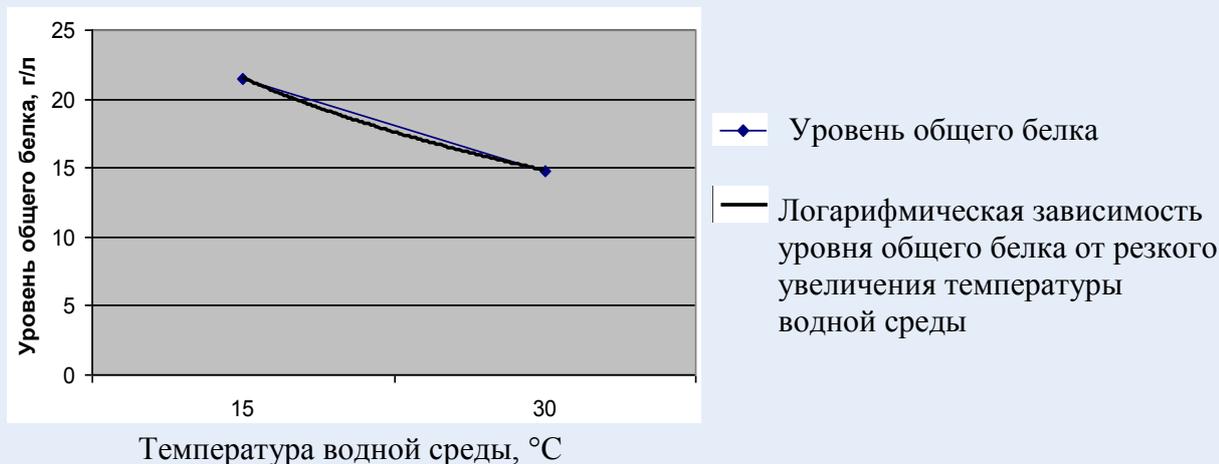


Рисунок 4. – Уровень общего белка сыворотки крови сеголеток карпа экспериментальных групп

В результате экспериментальных исследований установлено, что резкое увеличение температуры водной среды приводит к увеличению уровня кортизола на

49,5 %, что составляет $486,1 \pm 55,7$ нмоль/л ($p < 0,005$), в контрольной группе – $245,3 \pm 36,9$ нмоль/л (рисунок 5).

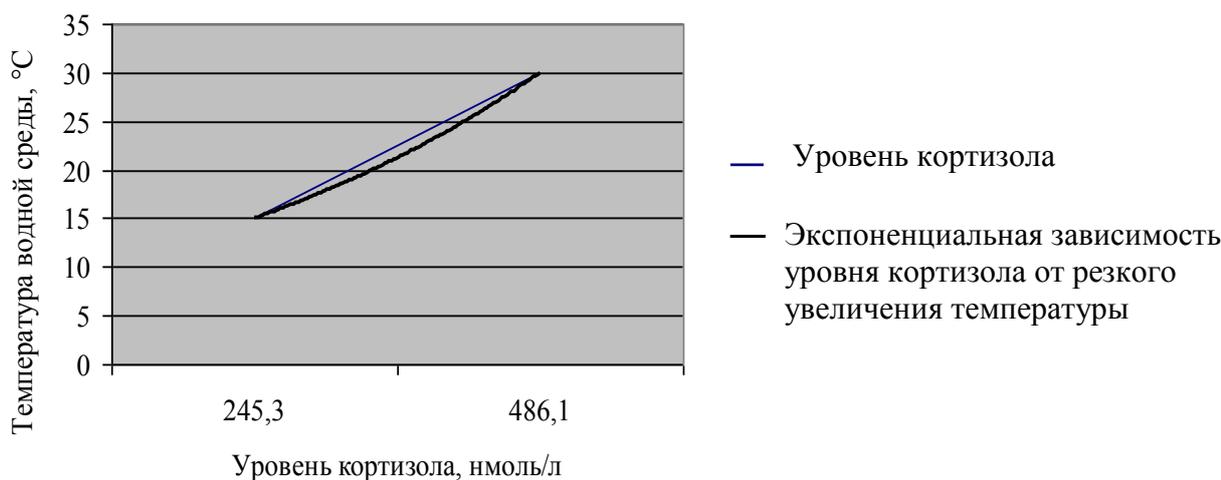


Рисунок 5. – Зависимость уровня кортизола от резкого увеличения температуры

ВЫВОДЫ

1. При формировании адаптационных процессов у рыб наблюдается закономерное изменение уровня кортизола сыво-

ротки крови в зависимости от различных факторов.

2. В условиях аквакультуры самки-производители карпа являются менее ус-

тойчивыми к воздействию стрессовых факторов по сравнению с самцами-производителями. При этом уровень гормона кортизола в группе самок составлял $1157,62 \pm 60,6$ нмоль/л, что на 51,68 % достоверно выше, чем у самцов-производителей ($559,37 \pm 49,7$ нмоль/л).

3. Двухлетний карп является менее устойчивым к воздействию средовых факторов по сравнению с трехлетним. При этом уровень гормона кортизола в группе двухлетнего карпа составил в среднем $1057,38$ нмоль/л, что на 22 % выше, чем у трехлетнего (в среднем $824,63$ нмоль/л). Уровень белка у двухлетнего карпа ниже, чем у трехлетнего, и составляет в среднем $1,328$ г/%, а у трехлетнего карпа – в среднем $2,564$ г/%.

4. Установлена зависимость уровня кортизола в сыворотке крови карпа от плотности посадки. При трехкратном увеличении плотности посадки уровень кортизола увеличивается в 3 раза и составляет $278,8 \pm 3,9$ нмоль/л. Шестикратное увеличение плотности посадки приводит к увеличению уровня кортизола до $322,9 \pm 3,65$ нмоль/л, что в 3,5 раза выше, чем в контрольной группе ($90,9 \pm 8,5$ нмоль/л). Также в группе с шестикратным увеличением плотности посадки наблюдается снижение

уровня общего белка сыворотки крови до $17,02 \pm 1,1$ г/л по сравнению с контрольной группой, в которой данный показатель составляет $23,18 \pm 0,68$ г/л.

5. Установлена зависимость уровня кортизола в сыворотке крови карпа от изменения температуры водной среды. При постепенном повышении температуры водной среды до 22 °С уровень кортизола увеличивается на 35,6 % и составляет $227,1 \pm 30,8$ нмоль/л. При постепенном повышении температуры до 30 °С уровень кортизола увеличивается на 49,1 % и составляет $287,3 \pm 15,2$ нмоль/л. Постепенное увеличение температуры водной среды на 10 – 15 °С приводит к снижению уровня общего белка сыворотки крови до $19,5 \pm 1,9$ – $19,0 \pm 1,7$ г/л по сравнению с контрольной группой, в которой данный показатель составляет $21,1 \pm 2,4$ г/л.

6. Резкое увеличение температуры водной среды на 15 °С приводит к увеличению уровня кортизола до $486,1 \pm 55,7$ нмоль/л, что на 49,5 % выше, чем в контрольной группе ($245,3 \pm 36,9$ нмоль/л).

Также наблюдается значительное снижение уровня общего белка сыворотки крови – до $14,8 \pm 0,8$ г/л, что на 31,2 % ниже, чем в контрольной группе.

ЛИТЕРАТУРА

1. Меерсон, Ф. З. О «цене» адаптации / Ф. З. Меерсон // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 1986. – № 3. – С. 9–19.
2. Козлова, Т. В. Ихтиопатология. Лабораторный практикум : учеб. пособие / Т. В. Козлова, Е. Л. Микулич, А. И. Козлов; под ред. Е. Л. Микулич. – Минск : ИВЦ Минфина, 2018. – 280 с.
3. Кубасов, Р. В. Гормональные изменения в ответ на экстремальные факторы внешней среды / Р. В. Кубасов // Вестник Российской академии медицинских наук. – 2014. – №№ 9-10. – С. 102–109.
4. Charmandari, E. Endocrinology of the stress respons / E. Charmandari, C. Tsigos, G. Chrousos // Annu.Rev.Physiol. – 2005. – Vol. 67. – P. 259–284.

наша продукция

